



IFW

THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of: Saitou et al.

Art Unit: 1625

Application No.: 10/761,253

Examiner: Oh

Filing Date: January 22, 2004

Atty. Docket: US-159

Title: METHOD OF PURIFYING GLUTAMIC ACID  
BY TRANSITION RECRYSTALLIZATION

**SUBMISSION OF CERTIFIED COPY OF PRIORITY DOCUMENT TO  
SUPPORT A CLAIM TO PRIORITY UNDER 35 U.S.C. §119**

Commissioner of Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

Priority under 35 U.S.C. § 119 is claimed to the following priority document(s),  
filed in a foreign country within one (1) year prior to the filing of the above-referenced  
United States utility patent application (35 U.S.C. § 172):

Country	Priority Document Appl. No.	Filing Date
Japan	2001-228882	July 30, 2001

A certified copy of each listed priority document is submitted herewith. Prompt  
acknowledgment of this claim and submission is respectfully requested.

Respectfully submitted,

Shelly Guest Cermak  
Reg. No. 39,571

Date: October 22, 2004

**PTO Customer Number: 000038108**

Ajinomoto Corporate Services, LLC  
1120 Connecticut Avenue, Ste. 1010  
Washington, D.C. 20036  
202.457.0284

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて  
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed  
with this Office

出 願 年 月 日  
Date of Application:

2001年 7月30日

出 願 番 号  
Application Number:

特願2001-228882

[ST.10/C ]:

[JP2001-228882]

出 願 人  
Applicant(s):

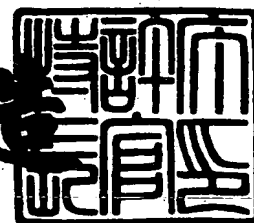
味の素株式会社

CERTIFIED COPY OF  
PRIORITY DOCUMENT

2002年 1月11日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3114699

【書類名】 特許願

【整理番号】 MA43903

【提出日】 平成13年 7月30日

【あて先】 特許庁長官 殿

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社発  
    酵技術研究所内

    【氏名】 齋藤 芳樹

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社発  
    酵技術研究所内

    【氏名】 香田 隆之

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社発  
    酵技術研究所内

    【氏名】 上田 洋

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社発  
    酵技術研究所内

    【氏名】 佐藤 和博

【特許出願人】

    【識別番号】 000000066

    【氏名又は名称】 味の素株式会社

【代理人】

    【識別番号】 100064687

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 霜越 正夫

    【電話番号】 03-5205-2384

【選任した代理人】

【識別番号】 100102668

【弁理士】

【氏名又は名称】 佐伯 憲生

【電話番号】 03-5205-2521

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 049401

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9607453

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 グルタミン酸の転移再結晶による精製方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 L-グルタミン酸 $\alpha$  晶を含む L-グルタミン酸粗結晶を、該 L-グルタミン酸結晶の飽和溶液を調製するに足る量以下の水性溶媒中で、活性炭を共存させた状態で、50℃以上でかつ水性溶媒の沸点以下の温度に L-グルタミン酸結晶の 30% 程度以上が $\beta$  晶に転移するまで保つことを特徴とする L-グルタミン酸の転移再結晶による精製方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、L-グルタミン酸 $\alpha$  晶を含む粗製 L-グルタミン酸結晶の転移再結晶による精製法に関する。

【0002】

【従来の技術】

現在、L-グルタミン酸結晶は、そのまま遊離態の結晶であるいはナトリウム塩などの塩の形態で調味料、医薬品、食品、飲料、合成繊維原料その他の用途のために日本、米国その他各国でいわゆる発酵法により生産されていることは周知の通りである。

【0003】

ところで、いわゆる発酵法により生産される L-グルタミン酸の第 1 次結晶は、すなわち、L-グルタミン酸を生成蓄積する能力を具えた微生物を培養し、培養液より分離した L-グルタミン酸結晶は、多くの場合種々の不純物を含有している。したがって、第 1 次結晶は、これをそのまま中和して L-グルタミン酸モノナトリウム塩（結晶）を製造しようとする、L-グルタミン酸モノナトリウム塩製造工程における、濾過、脱色および L-グルタミン酸モノナトリウム塩結晶晶出において大きな負担となる。

【0004】

そのため、従来、この粗製 L-グルタミン酸結晶（第 1 次結晶）を精製する方

法として、粗製 L-グルタミン酸結晶を水性溶媒中で加熱し、 $\alpha$  晶（結晶の形が短桿状または粒状の結晶）から  $\beta$  晶（結晶の形が針状または鱗片状の結晶）へ転移せしめ、その過程において粗製 L-グルタミン酸結晶中の不純物を放出させ、生じた精製 L-グルタミン酸結晶を母液から分取する方法が提案されている（特公昭 4 5 - 4 7 3 0 号公報、特公昭 4 5 - 1 3 8 0 6 号公報など）。

## 【 0 0 0 5 】

しかしながら、この転移晶析方法には次の 2 つの問題が生じる。すなわち、（1）不純物による影響で転移に長時間を要する場合がある。そして、（2）長時間加熱することにより L-グルタミン酸の変質（L-グルタミン酸の脱水反応によるピロリドンカルボン酸（PCA）の生成）ロスが生じる場合がある。

## 【 0 0 0 6 】

## 【発明が解決しようとする課題】

前項記載の従来技術の背景下に、本発明の目的は、この転移晶析方法を改善することによって、L-グルタミン酸  $\alpha$  晶を含む粗製 L-グルタミン酸結晶から短時間に高収率で精製 L-グルタミン酸結晶を製造することを目的とする。換言すれば、本発明の目的は、従来一般に行われている L-グルタミン酸の精製方法である転移再結法（前掲特公昭 4 5 - 4 7 3 0 号公報や特公昭 4 5 - 1 3 8 0 6 号公報）と比較して、著しく迅速かつ高収率で、精製グルタミン酸結晶を、極めて簡便かつ容易に工業的規模で取得することにある。

## 【 0 0 0 7 】

## 【課題を解決するための手段】

本発明者は、前項記載の目的を達成すべく種々検討を重ねた結果、転移再結晶の際に活性炭を添加することにより転移を促進し、短時間に高収率で L-グルタミン酸  $\beta$  晶を取得できることを見出し、このような知見に基いて本発明を完成するに至った。

## 【 0 0 0 8 】

すなわち、本発明は、L-グルタミン酸  $\alpha$  晶を含む L-グルタミン酸粗結晶を、該 L-グルタミン酸結晶の飽和溶液を調製するに足る量以下の水性溶媒中で、活性炭を共存させた状態で、50℃以上でかつ水性溶媒の沸点以下の温度に L-

グルタミン酸結晶の30%程度以上が $\beta$ 晶に転移するまで保つことを特徴とする  
L-グルタミン酸の転移再結晶による精製方法に関する。

【0009】

【発明の実施の形態】

以下、本発明を詳細に説明する。

【0010】

本発明の精製方法の適用されるべき粗製L-グルタミン酸結晶としては、例えば、中性pH条件下でL-グルタミン酸を生成蓄積する能力を具えた微生物を培養しL-グルタミン酸を生産させ、培養液に酸を添加し晶出せしめたL-グルタミン酸 $\alpha$ 晶を含む粗製L-グルタミン酸結晶（学会出版センター発行「アミノ酸発酵」195～215頁、1986年）、低pH条件下でL-グルタミン酸を生成蓄積する能力を具えた微生物を培養し、培養液中に晶出せしめたL-グルタミン酸 $\alpha$ 晶を含む粗製L-グルタミン酸結晶（特願2000-241253）等を挙げることができる。また、このような第1次結晶だけでなく、その後に得られる粗結晶であっても、また発酵法によらずに得られた粗結晶であっても、 $\alpha$ 晶を含む粗結晶であれば、本発明の精製方法の対象となる。

【0011】

このような粗製L-グルタミン酸結晶はその全てまたは一部が $\alpha$ 晶より成ることを要するが、本発明の精製方法による精製効果の奏される限りは、 $\alpha$ 晶の含量は特に限定されない。大部分が $\beta$ 晶であって一部分のみが $\alpha$ 晶である場合であっても（例えば、 $\alpha$ 晶が総グルタミン酸の1%というような $\alpha$ 晶の割合が低い場合）、大部分が $\alpha$ 晶の場合と同様な精製効果を上げ得るのである。

【0012】

因みに、大部分が $\alpha$ 晶である粗製L-グルタミン酸結晶は、例えば、種晶として $\alpha$ 晶を添加した場合に取得され、そして大部分が $\beta$ 晶である粗製L-グルタミン酸結晶は、例えば、種晶として $\beta$ 晶を添加した場合に取得される。

【0013】

本発明の方法において使用する水性溶媒としては、例えば、水、グルタミン酸ナトリウム水溶液、グルタミン酸カリウム水溶液、グルタミン酸カルシウム水溶

液、グルタミン酸アンモニウム水溶液およびグルタミン酸塩酸塩水溶液を挙げることができる。

## 【 0 0 1 4 】

その量は精製処理すべき粗結晶より飽和水溶液を調整するに足る量以下である。換言すれば、粗結晶を晶泥状（スラリー）に保ち得る量である。また、この範囲内では溶媒量は限定されない。一般に不純物が多い粗結晶を処理するときは晶泥濃度を低くした方が良い。しかしながら、希薄な晶泥状態で精製処理をするときは取扱い量が増大し、エネルギー費その他の増加をみるため不経済である。一方、極端に高濃度の晶泥状態で精製処理をする際は攪拌時に構造粘性が生じ、エネルギー費の増大をみることがある。

## 【 0 0 1 5 】

本発明の精製方法において使用する活性炭には特別の制限はなく、適宜市販の活性炭を使用することができる。このような活性炭として、例えば、「粉末活性炭 S I W」（味の素ファインテクノ株式会社製）などを挙げることができる。使用する活性炭の量は、精製処理する粗製 L-グルタミン酸結晶に対してその 0.1 w t % でも効果が得られるが、一般に不純物が多い晶泥を処理するときは添加量を多くした方がいい。とはいうものの、経済的観点から考えて添加量は調整すべきであり、過剰量添加する必要はない。所与の場合における適当な活性炭の量は、当業者であれば事前の予備実験により極めて容易に定めることができる。

## 【 0 0 1 6 】

精製処理温度（転移再結晶温度）は、50℃以上でかつ使用する水性溶媒の沸点（より正確には粗結晶-水性溶媒混合系の液相の沸点）以下の温度範囲内の一定温度または変化する温度が好ましい。混合系をその温度条件下で放置または攪拌することで L-グルタミン酸の  $\alpha$  晶から  $\beta$  晶への転移が進行する。

## 【 0 0 1 7 】

精製効果の奏される L-グルタミン酸  $\alpha$  晶の  $\beta$  晶への転移率については、少しでも転移が進行すれば精製効果が得られるが、前出特公昭 4 5 - 1 3 8 0 6 号公報に記載の場合と同様に当初の  $\alpha$  晶の 3 0 % 程度以上が  $\beta$  晶へ転移するまで上記温度範囲内で放置または攪拌するのが好ましい。



## 【0018】

転移再結晶操作終了後精製L-グルタミン酸を母液と分離する際に、活性炭は必ずしも精製L-グルタミン酸結晶とは分離する必要はない。例えば、発酵法によるL-グルタミン酸モノナトリウム塩の製造工程においては、転移再結晶により得られた精製L-グルタミン酸結晶は水酸化ナトリウムで中和・溶解され、その後活性炭により脱色される（テクノシステム社発行「活性炭の応用技術 その維持と問題点」441～441頁、2000年）。したがって、この場合は、転移再結晶工程後に活性炭を精製L-グルタミン酸結晶から分離しなくとも、脱色工程後に活性炭を分離すればよい。因みに、本発明の精製方法において、転移再結晶処理に付されるべきスラリーに添加された活性炭はこの段階においても脱色作用を奏するが、その後精製グルタミン酸結晶とともに分離され、次いで精製グルタミン酸を水酸化ナトリウム水溶液を加えて中和・溶解しても一旦吸着した不純物を脱着することがないのでそのまま新たに活性炭を追加することで脱色が行なわれる。

## 【0019】

## 【実施例】

以下、実施例でもって本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

## 【0020】

## 実施例1

低pH条件下でL-グルタミン酸を生成蓄積する能力を具えたエンテロバクター・アグロメランス（独立行政法人 産業技術総合研究所特許生物寄託センター FERM BP-7207）を培養し、L-グルタミン酸 $\alpha$ 晶を種晶として添加することで培養液中に晶出せしめたL-グルタミン酸 $\alpha$ 晶粗結晶30g、水45gおよび「粉末活性炭SIW」（含水率39wt%）（味の素ファインテクノ株式会社製）0g、0.3gまたは3gを、攪拌機および冷却管を備えた200mlの三口フラスコに仕込んだ。オイルバスを用いて品温を90℃に保って転移再結晶を行った。

## 【0021】

転移再結晶処理の間、スラリーを経時的にサンプリングし、光学顕微鏡で観察することにより、転移挙動を評価した。 $\alpha$  晶が観察されなくなった時間を転移終了時間（転移所要時間）とした。

## 【0022】

結果を後掲図1に示す。活性炭を添加しない場合には転移に588分要したが、活性炭をL-グルタミン酸に対して1wt%共存させた場合には70分、そして10wt%共存させた場合には35分と短縮した。すなわち、活性炭を共存させることにより、転移を促進し、延いては転移時間を大幅に短縮することに成功した。

## 【0023】

さらに、L-グルタミン酸の脱水反応によるピロリドンカルボン酸への転化率、すなわちL-グルタミン酸のロス率を比較した。結果を後掲図2に示す。

## 【0024】

活性炭を添加しない場合にはピロリドンカルボン酸への転化率は28mol%であったが、活性炭をL-グルタミン酸に対して1wt%共存させた場合には4mol%、そして10wt%共存させた場合には2mol%となった。すなわち、活性炭を共存させることにより、L-グルタミン酸のピログルタミン酸への転化によるロスを大幅に削減できることがわかる。

## 【0025】

## 実施例2

中性pH条件下でL-グルタミン酸を生成蓄積する能力を具えたブレヴィバクテリウム・ラクトファーマンタム（独立行政法人 産業技術総合研究所特許生物寄託センター 寄託番号FERM BP-5189）を培養しL-グルタミン酸を生産させ、培養後に酸を添加し晶出せしめた $\alpha$ 型L-グルタミン酸粗結晶30g、水45gおよび「粉末活性炭SIW」（含水率39wt%）（味の素ファインテクノ株式会社製）0または3gを、攪拌機および冷却管を備えた200mlの三口フラスコに仕込んだ。オイルバスを用いて品温を90℃に保って転移再結晶を行った。

## 【0026】

この間、前実施例におけると同様にスラリーを経時的にサンプリングし、光学顕微鏡で観察することにより、転移挙動を評価した。 $\alpha$  晶が観察されなくなった時間を転移終了時間とした。

## 【 0 0 2 7 】

結果は、活性炭を添加しない場合には 7 8 0 分後においても  $\beta$  晶への転移が全く観測されなかったが、活性炭を L-グルタミン酸に対して 1 0 w t % 共存させた場合には 1 7 5 分で全て  $\beta$  晶へ転移した。すなわち、活性炭を共存させることにより、転移を促進し、転移時間を大幅に短縮することに成功した。

## 【 0 0 2 8 】

さらに、L-グルタミン酸の脱水反応によるピロリドンカルボン酸への転化率、すなわち L-グルタミン酸のロス率を比較した。

## 【 0 0 2 9 】

活性炭を添加しない場合にはピロリドンカルボン酸への転化率は 7 8 0 分後で 3 5 m o l % であったが、活性炭を L-グルタミン酸に対して 1 0 w t % 共存させた場合には転移終了時の 1 7 5 分後において 9 m o l % となった。すなわち、活性炭を共存させることにより、L-グルタミン酸のピログルタミン酸への転化によるロスを大幅に削減できることがわかる。

## 【 0 0 3 0 】

## 【発明の効果】

以上、実施例を挙げて具体的に示したように、本発明の活性炭を共存させる転移晶析方法によれば、従来法と比較して非常に短時間かつ高収率で精製 L-グルタミン酸結晶を製造できるため、これを安価で純度の高い結晶として市場に提供できる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【図 1】

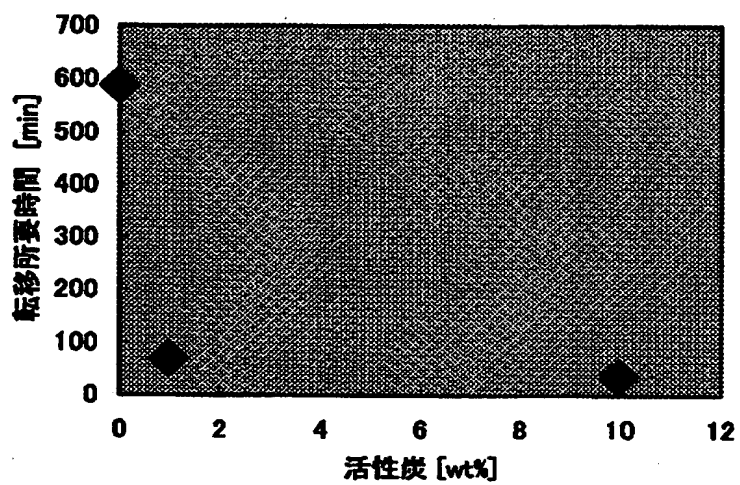
転移時間に及ぼす活性炭量の影響を示す（実施例 1）。

## 【図 2】

P C A への転化率に及ぼす活性炭量の影響を示す（実施例 1）。

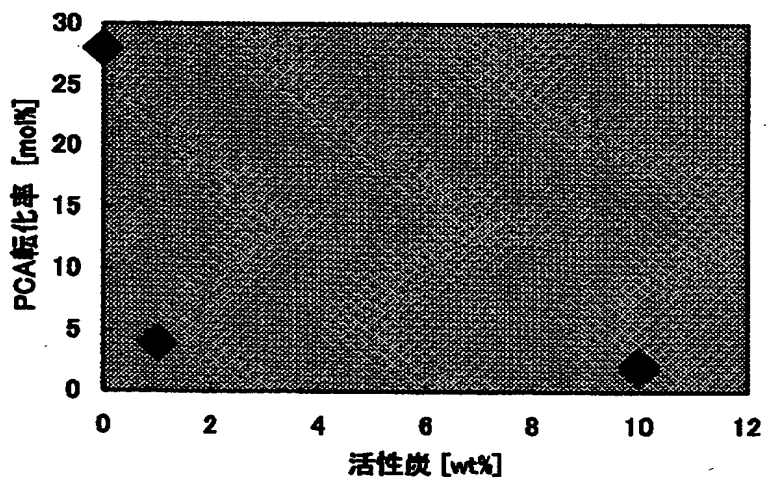
【書類名】 図面

【図 1】



転移時間に及ぼす活性炭量の影響

【図 2】



PCAへの転化率に及ぼす活性炭量の影響

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】従来一般に行われている L-グルタミン酸の精製方法である転移再結法と比較して、著しく迅速かつ高収率で、精製グルタミン酸結晶を、極めて簡便かつ容易に工業的規模で取得すること。

【解決手段】 L-グルタミン酸  $\alpha$  晶を含む L-グルタミン酸粗結晶を、該 L-グルタミン酸結晶の飽和溶液を調製するに足る量以下の水性溶媒中で、活性炭を共存させた状態で、50℃以上でかつ水性溶媒の沸点以下の温度に L-グルタミン酸結晶の30%程度以上が  $\beta$  晶に転移するまで保つことを特徴とする L-グルタミン酸の転移再結晶による精製方法に関する。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0000000066]

1. 変更年月日 1991年 7月 2日  
[変更理由] 住所変更  
住 所 東京都中央区京橋1丁目15番1号  
氏 名 味の素株式会社